

Dosagem de tiroxina total (T_4) sérica pelo método de quimioluminescência em gatos clinicamente saudáveis

Measurement of serum total thyroxine by chemiluminescence method in clinically healthy cats

Aline Bomfim VIEIRA¹; Maria Cristina Nobre e CASTRO¹; Isabel Maria Alexandre FREIRE¹; Maysa Joppert COELHO²; Nayro Xavier de ALENCAR¹; Ana Maria Barros SOARES¹

¹Departamento de Patologia e Clínica Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da UFF, Niterói-RJ

²Departamento de Estatística do Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro-RJ

Resumo

A dosagem de tiroxina total sérica em gatos é o exame de escolha para o diagnóstico do hipertireoidismo que é considerada a doença endócrina mais comum em gatos domésticos. Fatores como luminosidade e temperatura já foram incriminados como causa de variação das concentrações de hormônios tireoidianos em cães. O objetivo do presente estudo foi determinar valores séricos de referência para a tiroxina total em gatos saudáveis pelo método de quimioluminescência no Rio de Janeiro; comparar estes valores aos atualmente utilizados por laboratórios no Brasil e no exterior; além de analisar o efeito da idade e do sexo sobre os valores de tiroxina sérica total nos animais avaliados. A tiroxina sérica foi dosada em 119 amostras por meio de ensaio imunoenzimático por quimioluminescência. A faixa etária dos 119 felinos incluídos neste estudo variou de cinco meses a 18 anos (média de $7,11 \pm 3,64$). O menor valor de concentração sérica de T_4 encontrado foi de $0,44 \mu\text{g/dL}$ e o maior valor foi de $4,6 \mu\text{g/dL}$. A faixa de referência para a tiroxina nesta população ficou entre $0,75$ e $3,5 \mu\text{g/dL}$. De acordo com as amostras coletadas neste estudo, os valores médios da concentração de T_4 para gatos machos e fêmeas foram considerados os mesmos para um erro $\alpha = 0,05$. A idade, no entanto, apresentou um efeito significativo na concentração de T_4 ($p < 0,05$) e correlação positiva.

Palavras-chave: Gatos. Tireoide. Tiroxina total. Quimioluminescência.

Abstract

Measurement of serum total thyroxine is the standard method to diagnose feline hyperthyroidism which is now considered the most common endocrine disease in cats. Factors as luminosity and temperature were incriminated as causes for thyroid hormones variation in dogs. The present study aimed to determine reference values for serum total thyroxine in healthy cats in Rio de Janeiro; to compare these findings with values from laboratories inside and outside Brazil and finally, to analyze the effect of gender and age on serum total thyroxine concentration. One hundred nineteen healthy cats, living in Rio de Janeiro for at least five months, from both sex and different breeds were used in this study. Serum thyroxine was measured on 119 samples by Chemiluminescent Enzyme Immunoassay (CEIA) method. Cats aged between five months and 18 years (7.11 ± 3.64). The lowest and highest serum T_4 concentration founded in the whole population was $0.44 \mu\text{g/dL}$ and $4.6 \mu\text{g/dL}$ respectively. The reference range for this population was $0.75 - 3.5 \mu\text{g/dL}$. According to samples included in this study, there was no difference between males and females thyroxine values ($\alpha = 0.05$). However, age significantly influenced T_4 concentrations with a positive correlation ($p < 0.05$).

Keywords: Cats. Thyroid. Total thyroxine. Chemiluminescence.

Introdução

As doenças da glândula tireoide são comuns em animais de companhia e são caracterizadas pelo excesso de produção dos hormônios tireoidianos (hipertireoidismo) ou por sua falta (hipotireoidismo). Em gatos domésticos, o hipotireoidismo é conside-

Correspondência para:

Aline Bomfim Vieira
Rua Almirante Tamandaré, 32/801 – Flamengo
Rio de Janeiro – RJ 22210-060
Tels.: (21) 25570640; fax: (21) 2711-8056
E-mail: alinebv@vm.uff.br

Recebido: 28/03/2008

Aprovado: 07/01/2010

rado uma doença rara, no entanto, o hipertireoidismo é apontado atualmente como a doença endócrina mais comum de felinos em diversos países¹. A dosagem de T_4 total (tiroxina livre + tiroxina ligada à proteína) é o exame de eleição para diagnóstico do hipertireoidismo felino².

A ausência de valores de referência para os hormônios tireoidianos em felinos no Brasil pode ser um dos fatores que contribuem para a escassez de diagnóstico do hipertireoidismo felino. Os valores de referência utilizados atualmente no país são importados de países como os Estados Unidos, o que pode não refletir a realidade brasileira. Estudos científicos em cães e humanos demonstram que fatores climáticos influenciam nos valores dos testes da função tireoidiana, enfatizando assim a necessidade de determinação de valores de referência específicos para cada região^{3,4,5}.

A dosagem dos hormônios tireoidianos (tiroxina - T_4 e triiodotironina - T_3) é comumente realizada pelo método de radioimunoensaio (RIA)⁶. Embora seja um método simples, rápido e sensível, o uso de radioisótopos exige condições técnicas e ambientais próprias que aumentam o custo do exame e diminuem a sua disponibilidade⁷.

Técnicas não radioativas, como o ensaio imuno-enzimático por quimioluminescência (CEIA), foram difundidas nos últimos dez anos e são uma alternativa ao uso do RIA. Seu custo é menor e sua disponibilidade maior, visto que é comumente utilizada em laboratórios humanos. Esta técnica apresenta limites de detecção comparáveis ou superiores ao RIA e já foi validada para uso em gatos^{8,9}. Apesar de suas vantagens, o método de CEIA permanece pouco utilizado para dosagem hormonal em animais de companhia no Brasil.

O objetivo deste estudo foi determinar valores séricos de referência para a tiroxina total em gatos saudáveis, habitantes do município do Rio de Janeiro, pelo método de quimioluminescência, comparar estes valores aos atualmente utilizados por laboratórios no Brasil e nos Estados Unidos, além de analisar o efeito

da idade e do sexo sobre os valores de tiroxina sérica total nos animais avaliados.

Material e Método

Fizeram parte deste estudo 127 felinos domésticos, saudáveis, de diferentes raças, ambos os sexos, castrados e não castrados, provenientes do município do Rio de Janeiro, localizado no Estado do Rio de Janeiro. Foram determinados como critérios de inclusão residir no município do Rio de Janeiro há pelo menos cinco meses; não ter utilizado fármacos de qualquer origem, por qualquer via nos últimos dois meses; ausência de sinais clínicos na anamnese e exame físico e resultados de exames laboratoriais (hemograma e bioquímica sérica) dentro dos valores de referência, sugeridos pelo laboratório utilizado, para esta espécie.

Dos 127 felinos avaliados, oito foram excluídos do projeto por apresentarem algum tipo de alteração no exame físico e, ou laboratorial. Cento e dezoito animais foram considerados sadios e incluídos no projeto. A faixa etária dos 119 felinos incluídos neste estudo variou de cinco meses a 18 anos (média de $7,11 \pm 3,64$). Das 72 fêmeas (60,50%), 70 eram castradas (97,22%) e duas não castradas (2,78%). Dos 47 machos (39,50%), 46 eram castrados (97,87%) e um não castrado (2,13%). Dos 119 felinos, 112 eram sem raça definida (94,11%), cinco siameses (4,21%) e dois persas (1,68%). Todos os proprietários foram devidamente orientados e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido.

Os animais foram inicialmente avaliados por meio de anamnese com o proprietário e exame físico. Os felinos foram submetidos a jejum de pelo menos 12 horas para coleta de aproximadamente 7 mL de sangue por punção da veia cefálica ou safena interna. As coletas foram realizadas no local de residência dos felinos, no período da manhã, entre os meses de Janeiro a Abril de 2006, com temperatura média variando entre 25 e 30 °C (Fonte: Instituto Nacional

de Meteorologia, Estação Campos, RJ), para abolir possíveis interferências climáticas nas dosagens dos hormônios tireoidianos^{3,4}.

O sangue foi acondicionado em tubos tipo vacutainer® com e sem EDTA e identificados. As amostras com EDTA eram imediatamente refrigeradas e as amostras sem anticoagulante aguardavam em temperatura ambiente o tempo necessário para coagulação e retração do coágulo. Após a obtenção do soro por centrifugação (3000 rpm / 5 min), este foi separado em duas alíquotas e acondicionado em tubos tipo ependorf®. Uma alíquota foi congelada a -20 °C para futura análise hormonal. A outra parte foi encaminhada sob refrigeração juntamente com o frasco com EDTA para confecção, no mesmo dia de hemograma completo e bioquímica sérica (ureia, creatinina, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina e fósforo). Os animais considerados sadios foram incluídos definitivamente no projeto (n = 119) e seus soros foram posteriormente encaminhados para dosagem hormonal. Nenhum soro apresentou lipemia visível.

O material consistiu de 119 amostras contendo pelo menos 700 µL de soro felino congelado. Todas as amostras foram enviadas em gelo seco para a Divisão Veterinária do Laboratório Hermes Pardini (DVLHP) situado na Cidade de Belo Horizonte (Minas Gerais). Antes da análise, todas as amostras foram identificadas com etiquetas específicas contendo código de barras para a leitura por parte do aparelho. Foram utilizados pelo menos 300 µL de soro para cada dosagem. Aquelas amostras, que apresentaram resultados fora da faixa de referência sugerida pela DVLHP, foram avaliadas em duplicata. A sensibilidade do teste é de 0,4 µg/dL e a linearidade máxima de 24,0 µg/dL.

A tiroxina total sérica foi determinada utilizando-se analisador automatizado de imunoensaios com acesso randômico, dedicado à realização de imunoensaios e ensaios imunométricos quimioluminescentes (Immulite®, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, California).

O tratamento estatístico foi realizado por meio de análise descritiva. Foi feita uma estimativa dos Limites de Confiança para a média dos valores considerados normais da concentração de T_4 total para gatos clinicamente sadios utilizando-se a Distribuição *t* (Student). Testes de hipótese foram utilizados para a comparação dos valores da concentração de T_4 total entre gatos machos e fêmeas e entre os resultados deste estudo com os de outros autores. As médias das concentrações de T_4 total para diferentes faixas etárias foram comparadas por meio do uso de Análise de Variância (ANOVA). Usou-se Regressão Linear Simples para estabelecer-se uma correlação entre idade (variável independente) e concentração de T_4 total (variável dependente). A faixa de referência para as concentrações de tiroxina na população estudada foi determinada pelo cálculo do percentil 2,5 e 97,5% da amostra. O nível de significância utilizado foi de $p < 0,05$ e todas as análises foram feitas de acordo com métodos estatísticos estabelecidos^{10,11}.

Resultados

Os felinos foram divididos em grupos por faixa etária e sexo como descrito na tabela 1 para avaliar o efeito da idade e do sexo sobre os valores de tiroxina total.

A média das concentrações de tiroxina total nos 119 gatos estudados foi de $1,55 \pm 0,63$ µg/dL. O limite de confiança para a média desta população foi de 1,44 µg/dL a 1,67 µg/dL, para um nível de confiança de 95%. O menor valor de concentração sérica de T_4 encontrado foi de 0,44 µg/dL e o maior valor foi de 4,6 µg/dL. A faixa de referência para a tiroxina nesta população ficou entre 0,75 e 3,5 µg/dL.

De acordo com as amostras coletadas neste estudo, os valores médios da concentração de T_4 para gatos machos e fêmeas foram considerados os mesmos para um erro $\alpha = 0,05$.

As médias das concentrações de T_4 , para as diferentes faixas etárias, comparadas por meio do uso de

Tabela 1 - Distribuição por idade e sexo de 119 gatos saudáveis submetidos à dosagem de tiroxina total sérica por método de quimioluminescência

Faixa Etária	Machos	Fêmeas	Total
5m - 2a	1	3	4
2a - 5a	17	12	29
5a - 8a	13	22	35
8a - 11a	11	17	28
11a - 14a	4	14	18
14a - 17a	3	1	4
17a - 20a	1	-	1
Total	47	72	119

m = meses a = anos

Análise de Variância (Comparação Múltipla), indicou que as médias não são iguais para todas as faixas. Isto indica que, de acordo com as amostras analisadas neste estudo, a idade apresentou um efeito significativo na concentração de T_4 em gatos saudáveis ($P < 0,05$). Uma correlação positiva foi estabelecida, por Regressão Linear Simples, entre a concentração de T_4 e a idade dos gatos amostrados, conforme mostra a figura 1.

Discussão

A dosagem de tiroxina total em felinos atualmente é indicada como exame de triagem em felinos doentes acima de oito anos, tendo em vista a alta incidência de hipertireoidismo e a grande variedade de sinais clínicos que esta doença pode determinar¹. Sua importância clínica notória e a ausência de valores regionais no Brasil determinaram a motivação desta pesquisa.

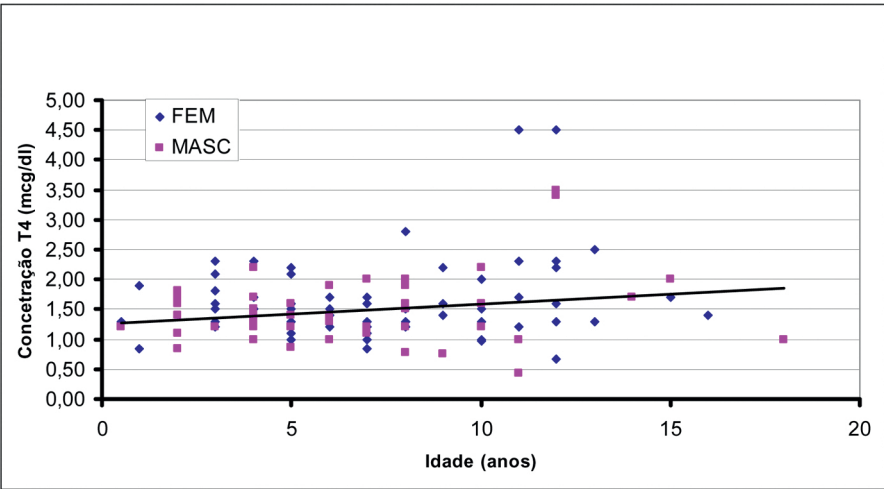


Figura 1 - Relação entre concentração de T_4 e idade em gatos com $n = 119$ sendo 47 machos e 72 fêmeas com idade média de $7,11 \pm 3,64$ anos. Apresenta uma correlação positiva baixa entre concentração de T_4 e idade usando-se regressão linear simples ($P < 0,05$ e $r^2 = 4,8\%$)

Vários métodos têm sido empregados na determinação do T_4 total, mas o CEIA parece ser o método mais indicado à realidade veterinária brasileira, por sua alta disponibilidade e baixo custo em comparação aos demais métodos disponíveis. O método já foi validado para felinos domésticos⁹ e apresenta sensibilidade suficiente (0,4 µg/dl) para detecção dos níveis de hormônios tireoidianos no gato¹². Estudo prévio demonstrou ainda que lipemia até 1000 mg/dL ou hemólise, não afeta a dosagem de tiroxina total felina por ensaio imunoenzimático. Amostras contendo triglicerídeos acima desta faixa, devem ser inicialmente submetidas à ultracentrifugação para posterior dosagem⁸. No presente estudo, nenhuma amostra apresentou lipemia e a hemólise, quando presente, foi considerada leve.

Todos os animais incluídos neste estudo foram avaliados previamente por meio de exame físico geral e exames laboratoriais a fim de abolir a interferência da Síndrome do Eutireoideo Doente nos valores de T_4 total. Embora exames sorológicos de Leucemia Felina (FeLV) e Imunodeficiência Felina (FIV) não tenham sido realizados em todos os indivíduos, é improvável que o estado de portador assintomático interfira nos níveis deste hormônio, visto que estudo prévio¹³, demonstrou que o grau de declínio dos valores de T_4 em gatos se relaciona com a gravidade da doença, e não com o tipo de doença em si.

A faixa de valores de referência para tiroxina total felina encontrada no presente estudo foi de 0,75 a 3,5 µg/dl e se difere daquelas sugeridas tanto pelo laboratório responsável pelas análises das amostras (DVLHP, Belo Horizonte, MG – 1,2 – 4,8 µg/dL), quanto por dois laboratórios internacionais (Idexx Laboratories, Los Angeles, Califórnia – 0,4 – 5,2 µg/dL; Laboratório da Universidade de Auburn, Alabama – 0,7 – 5,2 µg/dL). O método pelo qual os laboratórios determinaram suas faixas de referência, não é claro, mas o presente trabalho seguiu um dos métodos mais utilizados para tal fim (percentil 2,5 e 97,5%)¹⁴.

Singh et al.⁹, no estudo que validou o método de CEIA em gatos, obtiveram faixa de valores de referência de 1,0 a 4,0 µg/dL, utilizando o método de percentil 2,5 e 97,5%. Esses autores utilizaram apenas 12 amostras de sangue de gatos de um único sexo (fêmeas), o que foi suficiente para a validação do método, mas pode não ser representativo da população amostrada e consequentemente, insuficiente para determinação de valores de referência nesta população. Ainda que os valores obtidos por Singh et al.⁹ (1,0 a 4,0 µg/dL) pareçam próximos àqueles encontrados nos 119 gatos do presente estudo (0,75 a 3,5 µg/dL), o limite superior de ambos deixa dúvidas sobre a sensibilidade do diagnóstico dependendo dos valores de referência utilizados, enfatizando a necessidade de classificar alguns animais numa categoria de “suspeitos”.

Uma vez que o menor e o maior valores encontrados no presente estudo foram de respectivamente 0,44 e 4,6 µg/dL, seria prudente estabelecer uma faixa de valores “limite” como citam alguns autores². Neste caso, poderíamos considerar como normal baixo, valores de tiroxina total entre 0,44 e 0,75 µg/dL; e normal alto entre 3,5 e 4,6 µg/dL. Valores abaixo de 0,44 µg/dL e acima de 4,6 µg/dL poderiam ser considerados verdadeiramente abaixo e acima dos limites de normalidade. Os animais com valores dentro da faixa limite podem ter ou não doença tireoidiana (“suspeitos”). Nestes casos, os sinais clínicos e exames adicionais são necessários para concluir o diagnóstico.

A diferença encontrada enfatiza a necessidade de determinação de valores de referência específicos para cada região e cada laboratório, além de demonstrar que a falta destes valores pode influenciar diretamente no diagnóstico do hipertireoidismo felino. Portanto, a ausência de valores de tiroxina regionais pode ser um dos fatores incriminados no baixo número de diagnósticos de hipertireoidismo felino no Rio de Janeiro.

Estudos anteriores avaliaram a influência do sexo sobre os valores de tiroxina total em gatos, mas ainda não existe senso comum. Embora ainda não completamen-

te elucidados fatores reprodutivos podem ser responsáveis por variações nas concentrações dos hormônios tireoidianos¹⁵. Dois estudos^{16,17} encontraram valores de T_4 maiores em fêmeas do que em machos. Um terceiro estudo¹⁸ encontrou valores de T_4 menores em fêmeas do que em machos, enquanto alguns outros^{19,20,21}, concordando com os achados do presente estudo não encontraram diferença significativa nos valores de T_4 entre machos e fêmeas. No entanto, quando Anderson e Brown¹⁹ compararam apenas fêmeas, acharam diferença significativa e valores maiores naquelas não castradas. Pelo baixo número de animais não castrados na amostra (03 – 2,52%) a influência da castração nos níveis de tiroxina em ambos os sexos não pôde ser avaliada, mas é possível que este seja um fator determinante da ausência de diferença entre os grupos.

A relação da concentração de T_4 total com a raça não pôde ser determinada no presente estudo em função do baixo número de indivíduos com raça definida (07 – 5,89%) na amostra.

Quando se comparou a concentração de tiroxina com a idade dos felinos da amostra, uma correlação positiva significativa, porém baixa, foi encontrada ($r^2 = 4,8\%$; $P < 0,05$). Isto significa que nesta população as concentrações de tiroxina aumentaram pouco com a idade. A literatura é conflitante no que diz respeito à influência da idade sobre os valores de tiroxina em gatos. Nenhuma correlação entre idade e tiroxina total foi encontrada em estudos realizados por Ling, Lowensini e Kaneko²⁰ e por Anderson e Brown¹⁹. O alto número de animais jovens na amostra pode ter sido um fator influenciador dos resultados destes es-

tudos. Em 1984, Thoday, Seth e Elton¹⁷, concordando com o presente estudo, também encontrou uma correlação positiva ($r^2 = 21\%$; $P < 0,001$) entre T_4 total e idade numa amostra de 318 gatos no Reino Unido. No entanto, este mesmo autor encontrou um decréscimo nos valores de T_4 entre um e cinco anos de idade e só a partir daí, o início da elevação altamente significativa. Contrariando os achados do presente estudo e de Thoday, Seth e Elton¹⁷ e Skinner¹⁸, observou redução dos valores de tiroxina com o avançar da idade numa amostra de 157 gatos de uma colônia no Reino Unido e outra na Austrália. O motivo para achados tão discrepantes não é conhecido, portanto, estudos adicionais em gatos são necessários para um maior entendimento do efeito da idade sobre a função tireoidiana.

Conclusão

Os valores de referência para as concentrações de tiroxina total sérica em gatos no Município do Rio de Janeiro estão entre 0,75 e 3,5 $\mu\text{g/dL}$. Valores normais baixos estão entre 0,4 e 0,75 $\mu\text{g/dL}$ e normais altos entre 3,5 e 4,6 $\mu\text{g/dL}$. Os valores de referência dos laboratórios avaliados não devem ser utilizados no Município do Rio de Janeiro. O valor da tiroxina total sérica em gatos não varia de acordo com o sexo, mas demonstra uma discreta variação de acordo com a idade numa correlação positiva.

Agradecimentos

À *Waltham Foundation* e ao Laboratório Hermes Pardini.

Referências

1. FELDMAN, E. C.; NELSON, R. W. Feline hyperthyroidism (thyrotoxicosis). In: _____ **Canine and feline endocrinology and reproduction**. St. Louis: Saunders, 2004. p. 152-218.
2. NELSON, W. N. Disorders of the thyroid gland. In: NELSON, W. N.; COUTO, C. G. **Small animal internal medicine**. 2. ed. St. Louis: Mosby, 2003. p. 713-726.
3. OOHASHI, E.; YAGI, K.; UZUKA, Y.; TANABE, S.; SARASHINA, T.; ISHIDA, T. Seasonal changes in serum total thyroxine, free thyroxine and canine thyroid-stimulating hormone in clinically healthy beagles in Hokkaido. **Journal of Veterinary Medicine and Science**, v. 63, n. 11, p. 1241-1243, 2001.
4. TUCKOVA, M.; FIALKOVICOVÁ, M.; BARANOVÁ, E.; KÓZAK, M.; PÁLENÍK, L. Seasonal effect on serum levels of thyroid hormones in German shepherds and dachshunds and their health status. **Veterinary Medicine (Praha)**, v. 40, n. 8, p. 249-252, 1995.

5. VAN DO, N.; MINO, L.; MERRIAM, G. R.; LEMAR, H.; CASE, H. S.; PALINKAS, L. A.; REEDY, K.; REED, H. L. Elevations in serum thyroglobulin during prolonged antarctic residence: Effect of thyroxin supplement in the polar 3,5,3'-triiodothyronine syndrome. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 89, n. 4, p. 1529-1533, 2004.
6. REIMERS, T. J.; COWAN, R. G.; DAVIDSON, H. P.; COLBY, E. D. Validation of radioimmunoassay for triiodothyronine, thyroxine and hydrocortisone (cortisol) in canine, feline and equine sera. **American Journal of Veterinary Research**, v. 42, n. 11, p. 2016-2021, 1981.
7. PARADIS, M.; PAGÉ, N. Serum free thyroxin concentrations measured by Chemiluminescence in hyperthyroid and euthyroid cats. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 32, p. 489-494, 1996.
8. HORNEY, B. S.; MACKENZIE, A. L.; BURTON, S. A.; OLEXSON, D. W.; MITTON, K. L.; COTY, W. A.; RINNE, S. G. Evaluation of an automated, homogeneous enzyme immunoassay for serum thyroxin measurement in dog and cat serum. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 28, n. 1, p. 20-28, 1999.
9. SINGH, A. K.; JIANG, Y.; WHITE, T.; SPASSOVA, D. Validation of nonradioactive chemiluminescent immunoassay methods for analysis of thyroxin and cortisol in blood samples obtained from dogs, cats and horses. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 9, p. 261-268, 1997.
10. CALLEGARI-JACQUES, S. M. **Bioestatística: princípios e aplicações**. Porto Alegre: Artmed, 2006. 264 p.
11. ZAR, J. H. **Biostatistical analysis**. New Jersey: Prentice Hall, 1998. 929 p.
12. KEMPPAINEN, R. J.; BIRCHFIELD, J. R. Measurement of total thyroxin concentration in serum from dogs and cats by use of various methods. **American Journal of Veterinary Research**, v. 67, n. 2, p. 259-265, 2006.
13. PETERSON, M. E.; GAMBLE, D. A. Effect of nonthyroidal illness on serum thyroxine concentrations in cats: 494 cases (1988). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 197, n. 9, p. 1203-1208, 1990.
14. BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R.; BRUNS, D. E. **Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics**. St. Louis: Saunders, 2006. 2448 p.
15. JOHNSON, C. A. Reproductive manifestations of thyroid disease. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 24, n. 3, p. 509-514, 1994.
16. BIGLER, B. V. Der thyroxin-normalbereich bei der katze. (Normal thyroxin levels in the cat). **Schweizer Archiv für Tierheilk**, v. 118, p. 417, 1976.
17. THODAY, K. L.; SETH, J.; ELTON, R. A. Radioimmunoassay of serum total thyroxin and triiodothyronine in healthy cats: assay methodology and effects of age, sex, breed, hereditary and environment. **Journal of the Small Animal Practice**, v. 25, n. 8, p. 457-472, 1984.
18. SKINNER, N. D. Thyroid hormone levels in cats: Colony average and the decrease with age. **Journal of Nutrition**, v. 128, n. 12, p. 2636S-2638S, 1998.
19. ANDERSON, J. H.; BROWN, R. E. Serum thyroxine (T₄) and triiodothyronine (T₃) uptake values in normal adult cats as determined by radioimmunoassay. **American Journal of Veterinary Research**, v. 40, n. 10, p. 1493-1494, 1979.
20. LING, G. V.; LOWENSINE, L. J.; KANEKO, J. J. Serum thyroxin (T₄) and triiodotironina (T₃) uptake values in normal adult cats. **American Journal of Veterinary Research**, v. 35, n. 9, p. 1247-1249, 1974.
21. REAP, M.; CASS, C.; HIGHTOWER, D. Thyroxin and triiodothyronine levels in ten species of animals. **The Southwestern Veterinarian**, v. 31, n. 1, p. 31-34, 1978.